

16. 4. 2004

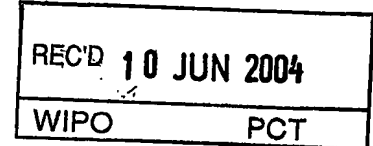
日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2003年 4月18日

出願番号
Application Number: 特願2003-114836
[ST. 10/C]: [JP 2003-114836]



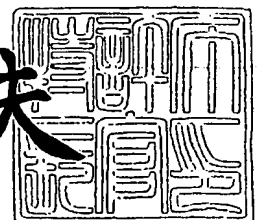
出願人
Applicant(s): 日立化成工業株式会社

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年 5月27日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 HTK-710

【提出日】 平成15年 4月18日

【あて先】 特許庁長官殿

【発明の名称】 分子の検出方法、局在化の検出方法及び計数方法

【請求項の数】 7

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 4 8 日立化成工業株式会社 総合
研究所内

【氏名】 小林 照幸

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 4 8 日立化成工業株式会社 総合
研究所内

【氏名】 中山 紀行

【発明者】

【住所又は居所】 茨城県つくば市和台 4 8 日立化成工業株式会社 総合
研究所内

【氏名】 田村 鶴紀

【発明者】

【住所又は居所】 東京都新宿区西新宿二丁目 1 番 1 号 日立化成工業株式
会社内

【氏名】 金 文錫

【特許出願人】

【識別番号】 000004455

【氏名又は名称】 日立化成工業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100083806

【弁理士】

【氏名又は名称】 三好 秀和

【電話番号】 03-3504-3075

【選任した代理人】

【識別番号】 100068342

【弁理士】

【氏名又は名称】 三好 保男

【選任した代理人】

【識別番号】 100100712

【弁理士】

【氏名又は名称】 岩▲崎▼ 幸邦

【選任した代理人】

【識別番号】 100087365

【弁理士】

【氏名又は名称】 栗原 彰

【選任した代理人】

【識別番号】 100100929

【弁理士】

【氏名又は名称】 川又 澄雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100095500

【弁理士】

【氏名又は名称】 伊藤 正和

【選任した代理人】

【識別番号】 100101247

【弁理士】

【氏名又は名称】 高橋 俊一

【選任した代理人】

【識別番号】 100098327

【弁理士】

【氏名又は名称】 高松 俊雄

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001982

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0302311

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 分子の検出方法、局在化の検出方法及び計数方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 基板上に固定された鎖状分子を溶液中で走査プローブ顕微鏡によりプロービングすることで視覚化し識別することを特徴とする分子の検出方法。

【請求項 2】 基板上に固定された鎖状分子が、直立して配置した一本鎖分子である請求項 1 記載の分子の検出方法。

【請求項 3】 直立して配置した一本鎖分子が、核酸、ペプチド核酸、ペプチド、糖ペプチド、タンパク質、糖タンパク質、多糖、化学合成ポリマーまたはそれらの類似物質である請求項 2 記載の分子の検出方法。

【請求項 4】 基板上に固定された鎖状分子が、直立して配置した一本鎖分子と、前記一本鎖分子に結合可能な一本以上の鎖状分子とを含む多本鎖分子である請求項 1 記載の分子の検出方法。

【請求項 5】 多本鎖分子が、核酸、ペプチド核酸、ペプチド、糖ペプチド、タンパク質、糖タンパク質、多糖、化学合成ポリマーまたはそれらの類似物質から選ばれた 1 種または 2 種以上の分子の複合体である請求項 4 記載の分子の検出方法。

【請求項 6】 請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の方法により、単位面積当たりのプロービングした鎖状分子の数を計数し、分子局在化の情報を得ることを特徴とする分子局在化の検出方法。

【請求項 7】 請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の方法により、単位面積当たりのプロービングした鎖状分子の数を計数することを特徴とする分子の計数方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、分子の検出方法、局在化の検出方法及び計数方法に関する。

さらに詳しくは、走査プローブ顕微鏡の探針で分子をプロービングすることに

より、直立した鎖状分子を視覚化し識別することを可能とする方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

分子を基板上に固定化する時、基板上で分子がどのような密度でどのように局在化しているかを知る方法はない。例えば、酵素免疫測定法（ELISA）で用いられるマイクロタイタプレートやタンパクチップなどの基板上のタンパク質分子をそれと親和性を有する色素などで染色し、吸光度や蛍光強度を測定しても単位面積当たりの濃度の平均値が求められるのみで、分子の局在化までは知り得ない。

また、DNAチップは基板上で塩基を一塩基ずつ付加してDNAを一本一本合成していく方法により、DNAマイクロアレイは基板に一本鎖核酸をスポットする方法により作成されるが、いずれも基板上の特定の範囲に一本鎖DNAが均一に固定化されているかを分子レベルで調べる技術はない。

【0003】

分子の局在化の情報を得るための手段としては、電子顕微鏡などを用いた観察がある。しかし、これらの観察は真空下で行うので、生体高分子はその構造が壊れてしまい観察できないか、あるいは基板に密着して基板との見分けができない。

【0004】

また、分光学的な方法などにより基板表面に付着した物質のイメージングを行う技術が近年用いられているが、装置の構造上、測定視野が広いために、分子レベルでの局在化の情報を得ることは困難である。

【0005】

分子を視覚化し、形状に関する情報を得るためには、走査プローブ顕微鏡を用いた観察が最も適している。核酸に関して言えば、走査プローブ顕微鏡を用いた観察により、二本鎖核酸のらせん構造が確認されている（例えば、非特許文献1、2参照）。また、原子間力顕微鏡を用いて原子間力測定を行うことで一本鎖DNA、二本鎖DNAを区別できることが可能となった（例えば、非特許文献3参照）。しかし、これらの技術においては核酸を基板に対し平行に吸着させている

ため、分子としての自由度が限定され、その後に起こる反応のためには、分子が好ましくない不活性な状態にあると言わざるを得ない。

【0006】

また、走査プローブ顕微鏡による分析において、二本鎖DNAと一本鎖DNAを識別するには、水平方向の障害がある。走査プローブ顕微鏡による高分解能観察のための条件として、常に探針の先端の一点で試料上を走査する必要がある。このとき、探針の側面が試料と接触し、その解像度を落としてしまう結果になる。

【0007】

上記のようなDNAチップやELISAにおいては、基板に対して分子を活性状態に保つような好ましい状態で固定化することが行われている。即ち、分子を直立させることにより分子の自由度を増すとともに、反応部位をより開放して反応性を向上させているが、分子が基板上の意図する部分に均一に固定化されていなければ定量的に性能を発揮することができない。

【0008】

均一に固定化されているかを確認する方法としては、走査プローブ顕微鏡による測定が考えられるが、直立した一本鎖分子では、やわらかい分子であるゆえに、折れ曲がる。直立した分子の高さが折れ曲がることにより、実際の高さより低く測定される。また折れ曲がった分子同士が重なり、縦横方向の解像度に影響を与え、正しい分子局在化情報が得られない場合がある。

【0009】

一方、測定環境から見れば、大気中と溶液中では、環境が違うため、分子は大気中では基板に密着するが、溶液中では自由運動を行っている。大気中において分子を測定すると、隣接分子同士が互いに絡み合っ

【0010】

【非特許文献1】

T. P. Beebe, Jr., T. E. Wilson, D. F. Ogletree, J. E. Katz, R. Balhorn, M. B. Salmeron and W. J. Siekhaus, Science 243, 370(1989)

【非特許文献2】

R. J. Driscoll, M. G. Youngquist and J. D. Baldeschwieler, Nature 346, 294 (1990)

【非特許文献3】

J. Wang and A. J. Bard, Anal. Chem. 73, 2207 (2001)

【0011】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、基板に固定された鎖状の分子を明確に識別することが可能な、分子の検出方法、局在化の検出方法及び計数方法を提供するものである。

さらに詳しくは本発明は、直立した一本鎖分子を走査プローブ顕微鏡に耐えるように、分子を剛直にし、直立した分子が基板に密着しないように溶液中で測定して、基板上の分子の正確な局在化の情報を提供するものである。

【0012】

【課題を解決するための手段】

上記課題の解決は、下記の本発明によって達成される。

(1) 基板上に固定された鎖状分子を溶液中で走査プローブ顕微鏡によりプロービングすることで視覚化し識別することを特徴とする分子の検出方法。

【0013】

(2) 基板上に固定された鎖状分子が、直立して配置した一本鎖分子である前記(1)記載の分子の検出方法。

【0014】

(3) 直立して配置した一本鎖分子が、核酸、ペプチド核酸、ペプチド、糖ペプチド、タンパク質、糖タンパク質、多糖、化学合成ポリマーまたはそれらの類似物質である前記(2)記載の分子の検出方法。

【0015】

(4) 基板上に固定された鎖状分子が、直立して配置した一本鎖分子と、前記一本鎖分子に結合可能な一本以上の鎖状分子とを含む多本鎖分子である前記(1)記載の分子の検出方法。

【0016】

(5) 多本鎖分子が、核酸、ペプチド核酸、ペプチド、糖ペプチド、タンパク質、糖タンパク質、多糖、化学合成ポリマーまたはそれらの類似物質から選ばれた1種または2種以上の分子の複合体である前記(4)記載の分子の検出方法。

【0017】

(6) 前記(1)～(5)のいずれかに記載の方法により、単位面積当たりのプロービングした鎖状分子の数を計数し、分子局在化の情報を得ることを特徴とする分子局在化の検出方法。

【0018】

(7) 前記(1)～(5)のいずれかに記載の方法により、単位面積当たりのプロービングした鎖状分子の数を計数することを特徴とする分子の計数方法。

【0019】

【発明の実施の形態】

以下、本発明について詳細に説明する。

本発明において、検出対象となる鎖状の分子は、一般に長さが基板の持つ表面粗さ以上であり、通常一本鎖分子である場合と多本鎖分子である場合がある。多本鎖分子は、それが剛直な分子であるので、検出対象が一本鎖分子である場合、直立して配置したターゲット一本鎖分子とそれに対する相補的な一本以上の分子からなる複合体(多本鎖分子)を形成させると、隣接分子と明確に区別して検出を行うことができるので好ましい。

【0020】

<一本鎖分子の配置>

本発明において、ターゲット一本鎖分子としては、デオキシリボ核酸(DNA)、リボ核酸(RNA)、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラシル、ヒポキサンチンを有する人工核酸、核酸誘導体等の核酸、または、ペプチド核酸(PNA)が一般的であるが、これらや、ペプチド、糖ペプチド、タンパク質、糖タンパク質、多糖または化学合成ポリマー(例えばポリメタクリル酸、ポリアクリル酸、ポリビニルイミダゾール、ポリスチレンスルホン酸、ポリアリルアミン、ポリチオフェン酢酸、または、ポリピリジニウムアセチレン)若しくはこれらの類似物質など相補的な分子をもつものであれば、前述のような多本鎖分子の

形成が可能であるので好ましいが、これに限定されるものではなく、その他ポリフェノール、ポリエステル、ポリエチレングリコール、ポリアミド酸、ポリビニルピロリドン、ポリアクリルアミド、ポリビニルアルコールのような化学合成ポリマーを用いることもできる。

また、鎖状分子としては、例えば一部に枝分かれ構造や網目構造を有しているものも、本発明の検出が可能なものであれば含まれる。

【0021】

上記ターゲット一本鎖分子は、通常直立した状態で基板に配置（固定）されている。本発明において基板に配置（固定）することとは、例えばリンカーを介する間接的な結合、または、静電的結合、疎水性結合、親水性結合、イオン結合、水素結合を含む物理的な吸着、あるいはあらゆる化学的な方法により一本鎖分子と基板とを結合することである。

【0022】

上記基板とは、一般に、プラスチック、ガラス、金属などの材質からなる、板状、ビーズ状、ウェル、膜、フィルム状等のものであり、通常は板状である。

【0023】

<多本鎖分子の形成>

上記の方法で、一本鎖分子を基板に対して直立した状態で配置する。しかし、一本鎖分子単独では、折れ曲がってしまうために、分子が隣接している場合には互いに重なってしまい、個々の分子として認識されないことがある。そこで配置した一本鎖分子に対して、相補的な一本鎖分子を1種類以上系に加えて、多本鎖分子を形成させることが好ましい。例えば一本鎖分子がDNAの場合には相補的な塩基を有する一本鎖DNAを加えて、二本鎖DNAを形成させる。そうすることで、その分子の構造は剛直になり、探針の接触にも耐え、検出感度が向上するので好ましい。

【0024】

本発明において、多本鎖分子とは、通常、上記ターゲット一本鎖分子と、該一本鎖分子に結合可能な一本以上の鎖状分子とを含む複合体、例えば、上記ターゲット一本鎖分子と相補的な分子が分子間の相互作用により複合体を形成したもの

をいう。したがって、本発明で言う多本鎖分子とは、核酸、ペプチド核酸、ペプチド、糖ペプチド、タンパク質、糖タンパク質、多糖、化学合成ポリマーまたはそれらの類似物質から選ばれた1種または2種以上の分子の複合体であり、例えば、二本鎖DNA、二本鎖RNA、二本鎖PNA、DNAとRNAのハイブリッド、DNAとPNAのハイブリッド、RNAとPNAのハイブリッド、アデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラシル、ヒポキサンチンを有する人工核酸や核酸誘導体と、DNAあるいはRNA、PNAとのハイブリッド、三本鎖核酸などである。

【0025】

多本鎖分子を形成させる際の条件は、特に限定するものではなく、一般的に通常用いられている方法に準じて良い。例えばDNAの二本鎖形成、即ちハイブリダイゼーションは、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化アンモニウム、酢酸ナトリウム、酢酸カリウム、酢酸アンモニウム等の塩を含む水系溶媒、もしくは緩衝溶液中で行われる。

【0026】

<走査プローブ顕微鏡>

本発明で用いる走査プローブ顕微鏡とは、原子レベルでの観察が可能な走査プローブ顕微鏡の総称であり、走査型トンネル顕微鏡 (scanning tunneling microscopy; STM)、原子間力顕微鏡 (atomic force microscopy; AFM) が含まれる。AFMは斥力型、引力型およびタッピング型 (「タッピング型」は、アメリカ合衆国カリフォルニア州サンタバーバラに所在するデジタルインスツルメント社の商標登録) 等到大別される。この分野の研究は未だ発展している最中であり、新しい顕微鏡が開発されつつある。また、本発明における走査プローブ顕微鏡とは、現在知られているものに限らず、原子レベルの分解能を有する顕微鏡で有れば将来開発されるものも含む。

プロービングの方法自体は、前記顕微鏡を用いた通常の方法を採用することができ、好ましくは液中におけるAFM観察であることが好ましい。

【0027】

<溶液>

大気中と溶液中では、環境が違い、分子は大気中では隣接分子同士で絡み合っ
て基板に密着するが、溶液中では自由運動を行っている。

本発明では、走査プローブ顕微鏡観察を溶液中で行うことにより、基板に直立
した分子像が得られる。そのとき、一本鎖分子は折れ曲がり、二本鎖分子は剛直
な為に折れ曲がらず、両者を高さで見分けることが可能となる。これは、水平方
向の障害にはよらない。

【0028】

本発明の検出方法において使用される溶液は、検出対象が安定に存在できるも
のであれば特に制限はなく、前述の多本鎖分子を形成させる際に使用されるよう
な塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化アンモニウム、酢酸ナトリウム、酢酸カ
リウム、酢酸アンモニウム等の塩を含む水系溶液、もしくは緩衝溶液が好ましい
。

【0029】

上記の方法であって、ある閾値以上の高さの鎖状分子の数を見積もることで、
分子の局在化の情報が得られる。また、ある単位面積当たりのプロービングした
鎖状分子の数を計数することで分子の数をカウントすることができる。

【0030】

実施例 1

以下、本発明の実施例を説明する。

【0031】

<使用基板>

基板は、カルボキシル基を導入したプラスチック基板 (1.5 cm × 1.5 c
m) を用いた。

【0032】

<dT20 固定化>

まず水酸化ナトリウムで pH 6.0 に調整した 0.1 M MES (2-(N-Morph
olino)ethanesulfonic acid) 緩衝液を用いて、25 mM EDC (1-Ethyl-3-(
3-dimethylaminopropyl)carbodiimide-HCl) 溶液を調整した。次に本溶液を用い
て、dT20 (5'-NH₂-(CH₂)₆-(Thymidine 5'-monophosphate)₂₀) を用いて溶

液 ($1.3\mu\text{M}$ dT₂₀ / EDC溶液) を調整し、この溶液を基板に 100 から 150 μl 滴下し、60℃で6時間インキュベートした反応後、純水で洗浄して、過剰な溶液を除去した。

【0033】

<一本鎖核酸の観察>

一本鎖DNAを固定化した基板をTE緩衝液 (Tris-EDTA緩衝液、10mM Tris、1mM EDTA、pH 7.8、0.5M 塩化ナトリウムを含む) 中に浸漬し、原子間力顕微鏡により dT₂₀ 固定化基板表面の起伏を画像化した。原子間力顕微鏡はセイコーインスツルメンツ株式会社のSPI 3800Nを用い、DFMモードで観察し、500 nm×500 nmの領域を走査した。

【0034】

図3は、基板を原子間力顕微鏡で観察したものである。起伏がほとんど無い。

【0035】

図4は、上記手法により dT₂₀ を固定化した基板を原子間力顕微鏡で観察したものである。高さ約5 nmの粒子が不鮮明でかつ重なり合っていた。

【0036】

<二重らせんの形成>

相補的な一本鎖核酸に dA₂₀-FAM (5'-5-Carboxy- fluorescein-(CH₂)₆-(2'-deoxyadenosine 5'-monophosphate)₂₀) を使用した。この dA₂₀-FAMをTE緩衝液に溶解した (20 pmol/ μl)。本溶液100から150 μl を dT₂₀ 固定化基板に滴下した。1時間後、過剰な dA₂₀-FAM溶液をTE緩衝液で洗浄除去後、基板をTE緩衝液中に浸漬し、原子間力顕微鏡により dT₂₀ 固定化基板表面の起伏を画像化した。

【0037】

図5は、上記手法により形成した二本鎖核酸を原子間力顕微鏡で観察したものである。高さが7～8 nmの粒子が鮮明にかつ規則的に観察できた。

【0038】

<大気中での二重らせんの形成した像>

固定化した dT₂₀ と dA₂₀-FAMの二重らせんを形成した基板表面を、

大気中で原子間力顕微鏡により画像化した。

【0039】

図6は、上記手法により形成した二本鎖核酸をTE緩衝液に浸漬せずに大気中にて原子間力顕微鏡で観察したものである。図4とは異なり、高さを判別できないことが確認できる。

【0040】

図7は、図4と図5における断面像の概念図である。(a)は、一本鎖DNAが基板に固定化されたもので、(b)は、同じ塩基数同士の二本鎖DNAが基板に固定化されたものである。

【0041】

実施例2

用いた基板と、前述の方法を用いてdT₂₀を固定化した基板と、前述の方法を用いて固定化したdT₂₀とdA₂₀-FAMの二重らせんを形成した基板の粒子解析を行った。

【0042】

粒子解析には、セイコーインスツルメンツ株式会社のSPI3800N付属のソフトウェアを用いた。閾値を7.5nmに設定し、50nm²以下の粒子面積を持つ粒子を除外して、個数を求めた。

【0043】

図8は基板の粒子解析像である。濃い点がカウントされた粒子で、薄い点が除外された粒子である。500nm×500nmの領域で、高さ7.5nm以上の粒子の数は、14個であった。

【0044】

図9はdT₂₀を固定化した基板の粒子解析像である。濃い点がカウントされた粒子で、薄い点が除外された粒子である。500nm×500nmの領域で、高さ7.5nm以上の粒子の数は、17個であった。

【0045】

図10は固定化したdT₂₀とdA₂₀-FAMの二重らせんを形成した基板の粒子解析像である。濃い点がカウントされた粒子で、薄い点が除外された粒子

である。500 nm×500 nmの領域で、高さ7.5 nm以上の粒子の数は250個であった。このようにして、計数して分子の数を求めることが可能であることが確認できる。

【0046】

【発明の効果】

以上のように、本発明によれば、従来は困難であった、基板上に固定された鎖状分子を明確に検出することができた。特に、直立させて配置した一本鎖分子を、走査プローブ顕微鏡によりプロービングすることで、分子を識別して局在化の情報を得ることができ、また、この一本鎖分子に相補的な一本鎖分子を結合させて剛直な多本鎖分子を形成させることで、より明確な分子像が得られ、正確な局在化の情報を得ることができる等、顕著な効果が認められた。

【図面の簡単な説明】

【図1】

基板に固定化された一本鎖DNAの空間充填モデル図である。

【図2】

基板に固定化された一本鎖DNAとその相補的塩基対を持つDNAとの二重らせんDNAとの二重らせんの空間充填モデル図である。

【図3】

(a)は、プラスチック基板を原子間力顕微鏡で観察した画像であり、(b)は、任意の地点における断面像の画像である。

【図4】

(a)は、プラスチック基板にdT₂₀を固定化したものを原子間力顕微鏡で観察した画像であり、(b)は、任意の地点における断面像の画像である。

【図5】

(a)は、図4で得られた試料に対して、dA₂₀-FAMを添加し、二重らせんを形成させたものを原子間力顕微鏡で観察した画像であり、(b)は、任意の地点における断面像の画像である。

【図6】

図5で得られた試料を大気中で原子間力顕微鏡で観察した画像である。

【図 7】

(a) は、一本鎖 DNA が基板に固定化されたものを原子間力顕微鏡で観察した場合における概念図であり、(b) は、同じ塩基数同士の二本鎖 DNA を原子間力顕微鏡で観察した場合における概念図である。

【図 8】

(a) は図 3 で得られた基板の粒子解析図であり、(b) は粒子が占める割合 (粒子の数) を横軸に、粒子の高さを縦軸に取った時のヒストグラムである。

【図 9】

(a) は図 4 で得られた dT₂₀ を固定化した基板の粒子解析図であり、(b) は粒子が占める割合 (粒子の数) を横軸に、粒子の高さを縦軸に取った時のヒストグラムである。

【図 10】

(a) は図 5 で得られた二重らせんを形成させた基板の粒子解析図であり、(b) は粒子が占める割合 (粒子の数) を横軸に、粒子の高さを縦軸に取った時のヒストグラムである。

【符号の説明】

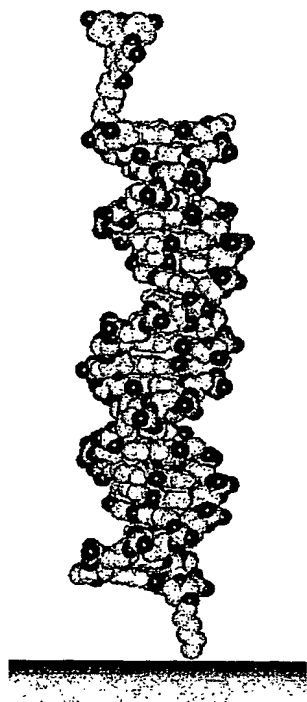
- 1 基板
- 2 dT₂₀ の一本鎖核酸
- 3 dT₂₀ と dA₂₀-FAM の二本鎖核酸
- 4 観察される一本鎖 DNA の形状
- 5 観察される二本鎖 DNA の形状

【書類名】 図面

【図 1】

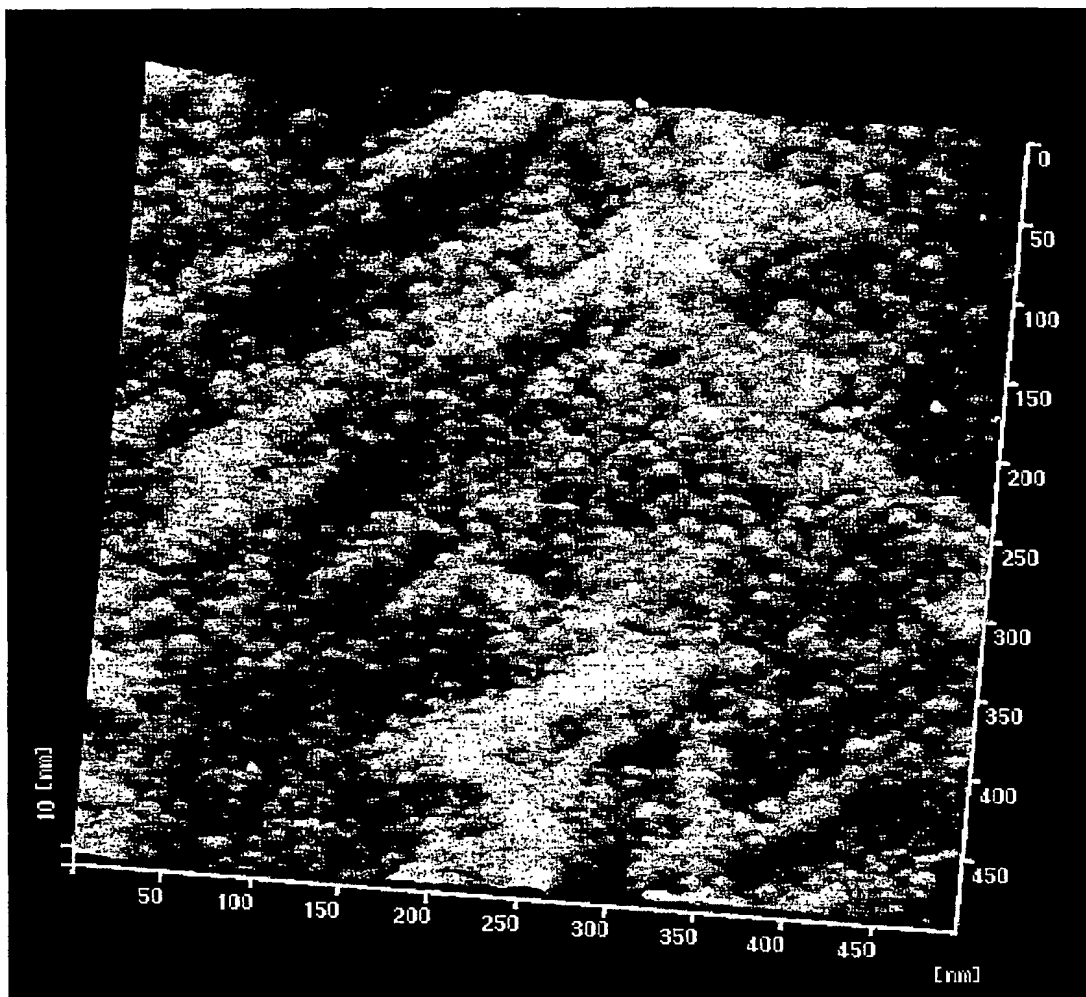


【図 2】

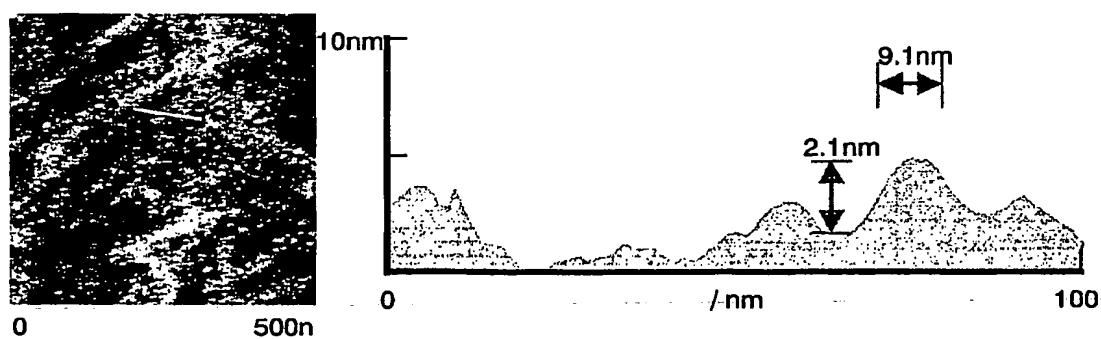


【図 3】

(a)

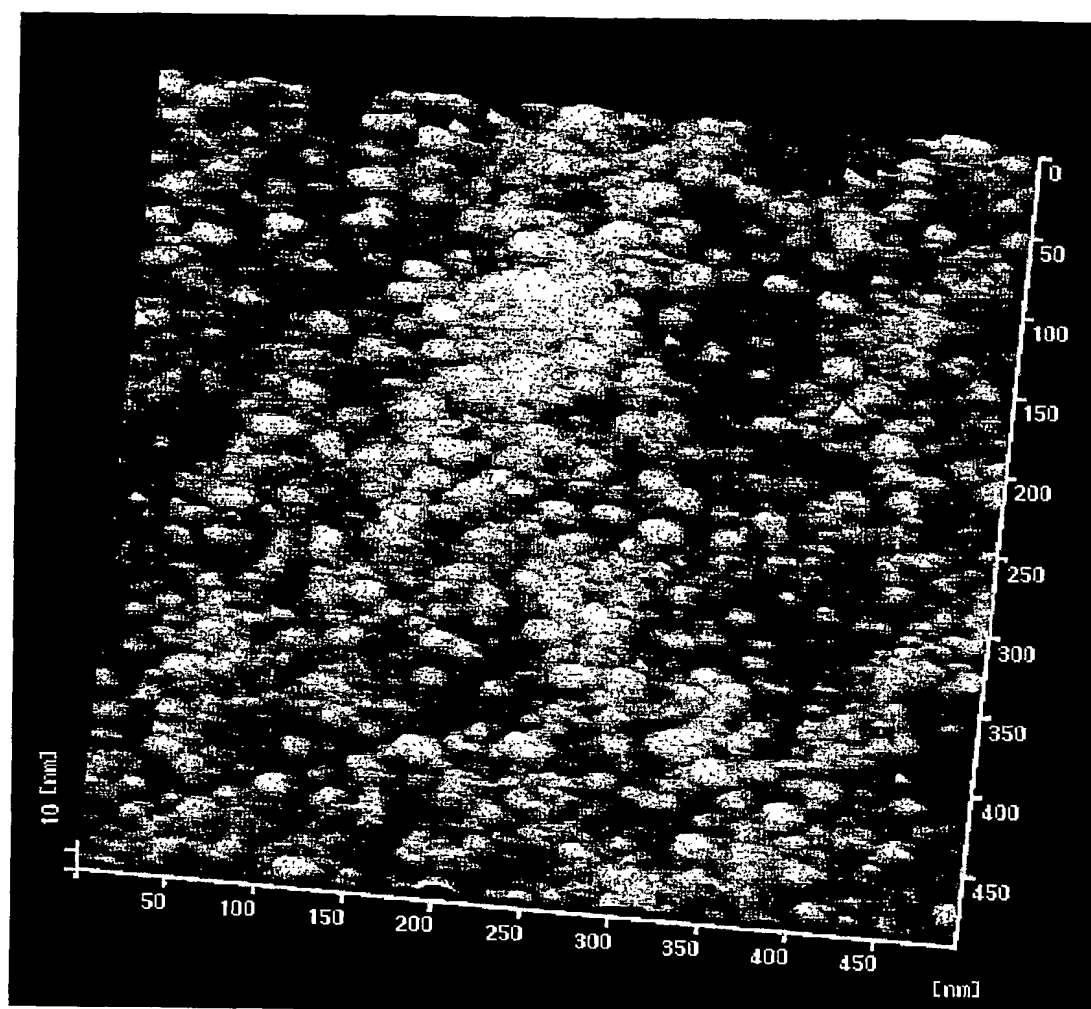


(b)

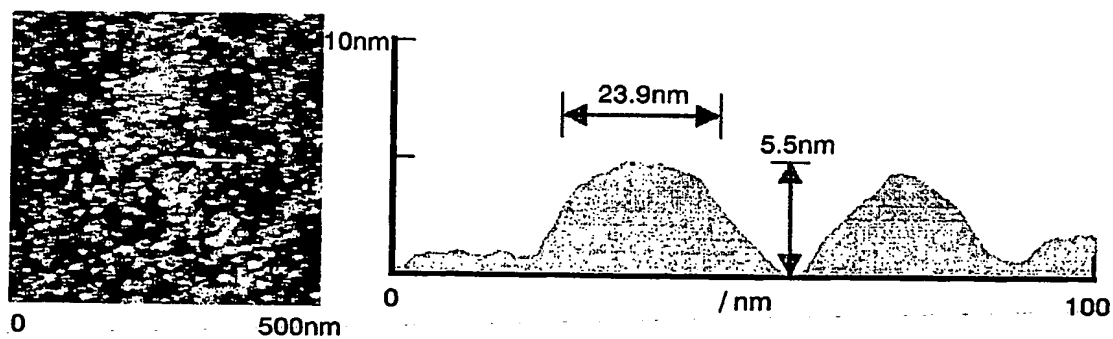


【図 4】

(a)

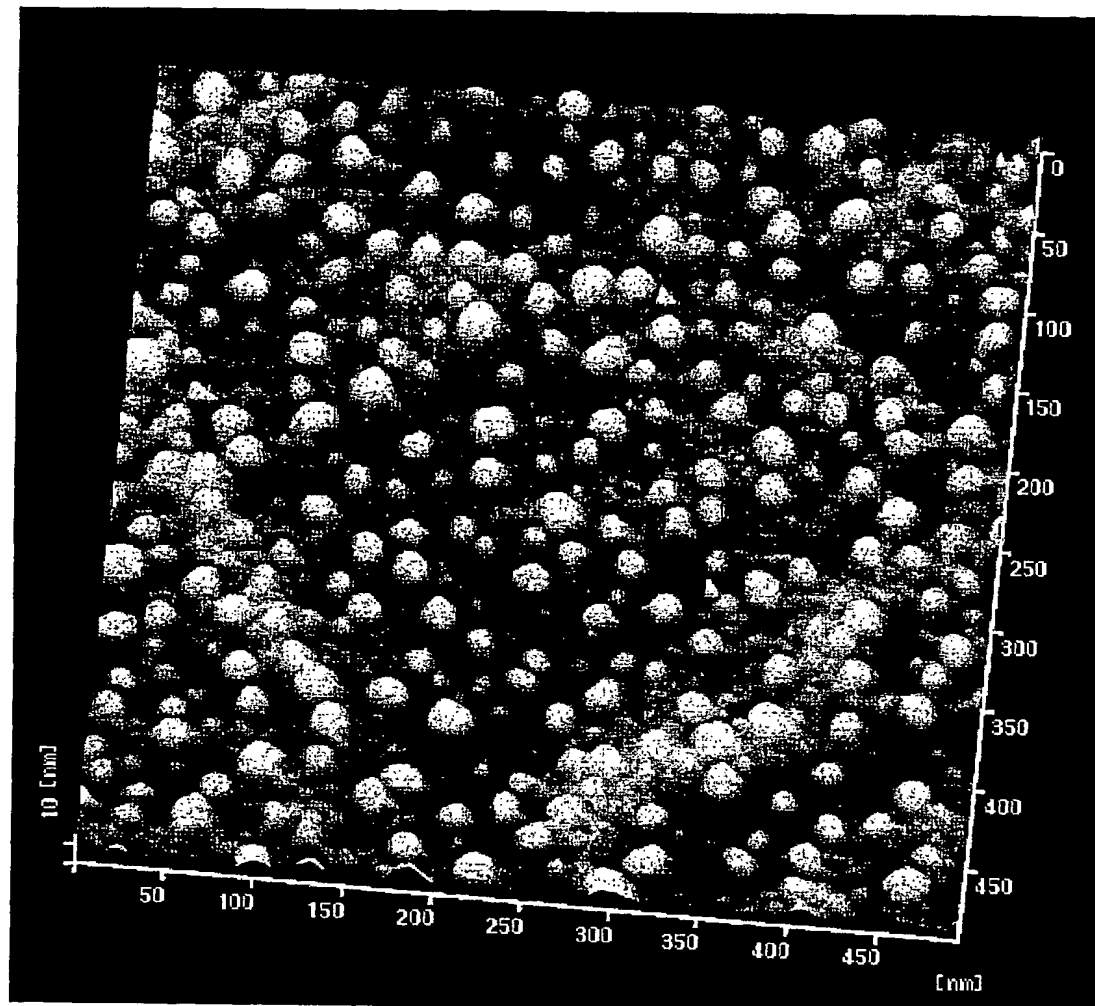


(b)

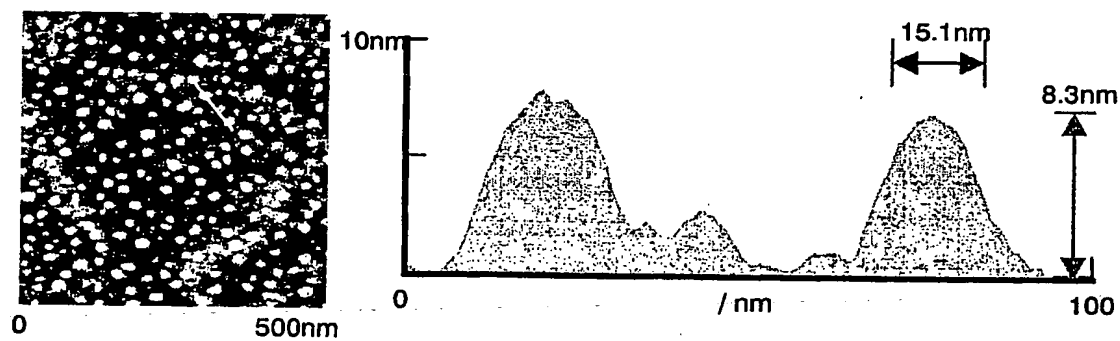


【図 5】

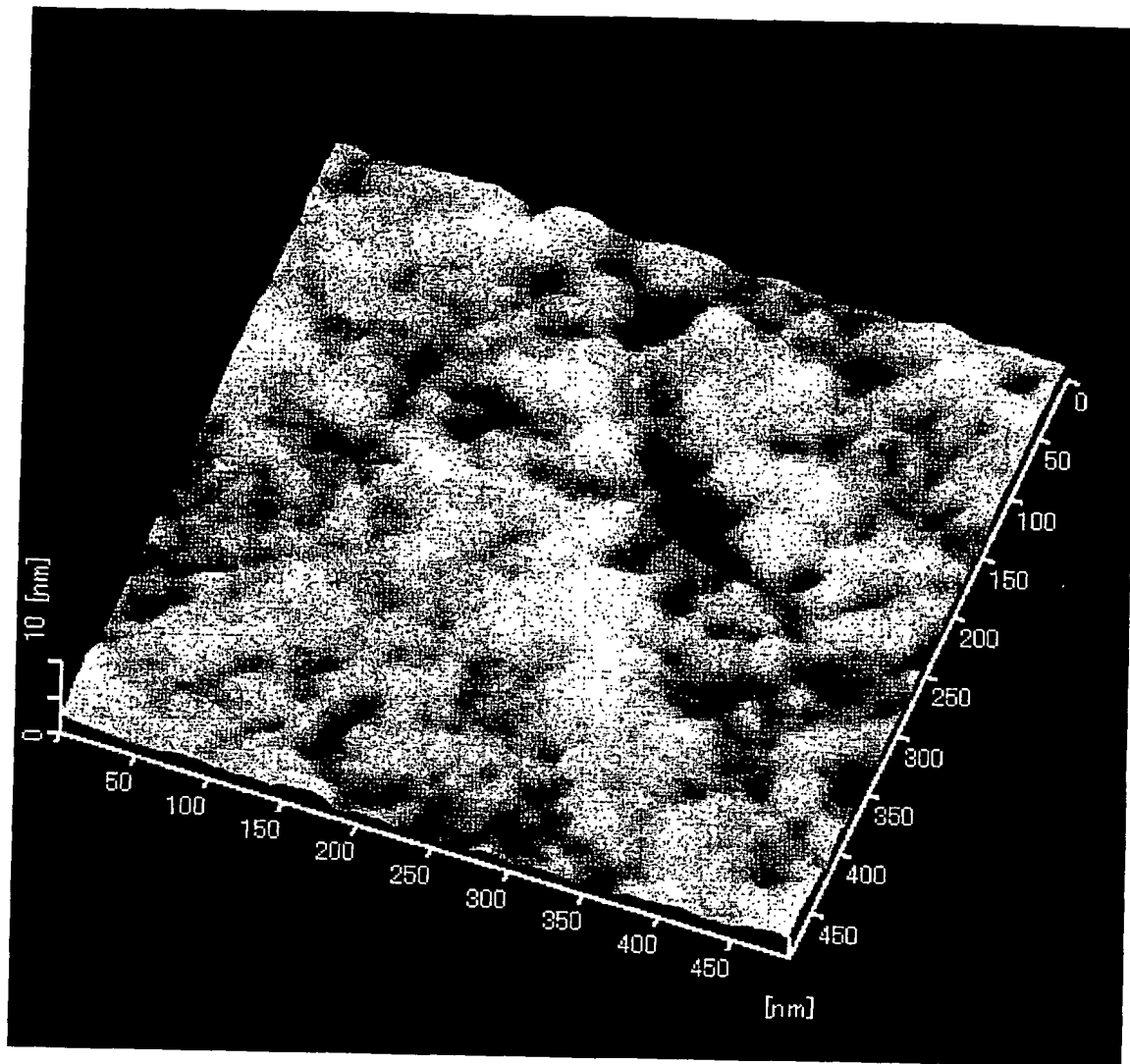
(a)



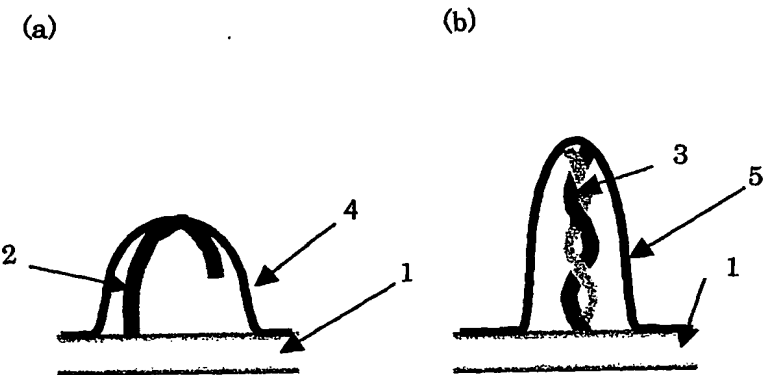
(b)



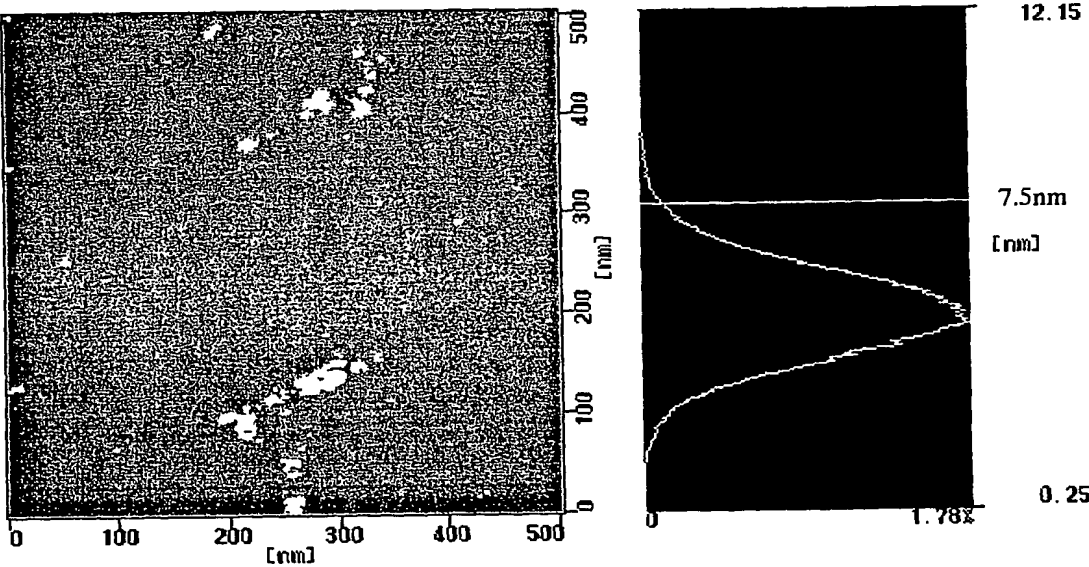
【図 6】



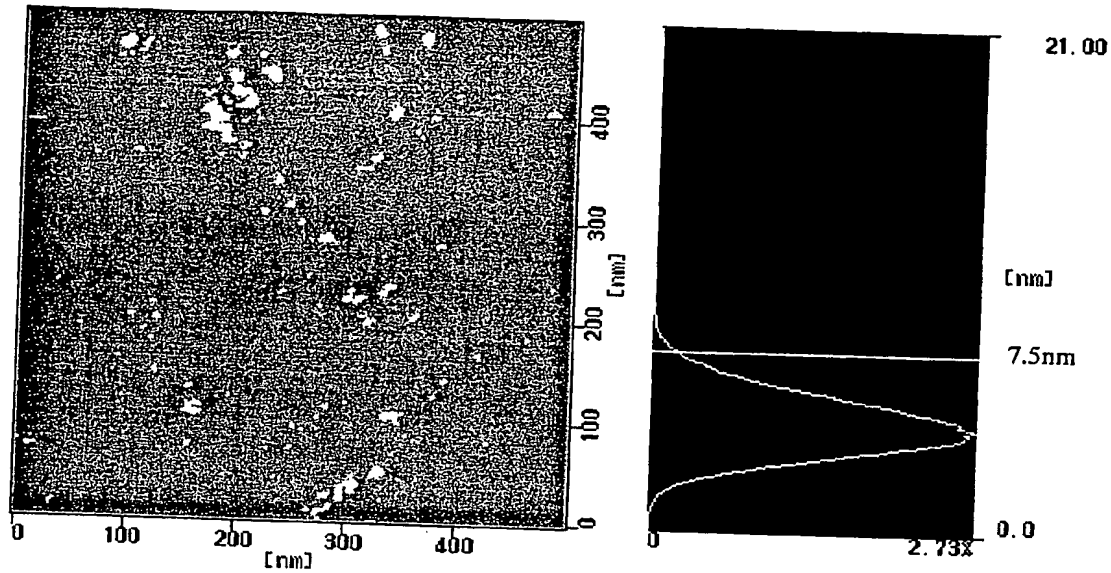
【図 7】



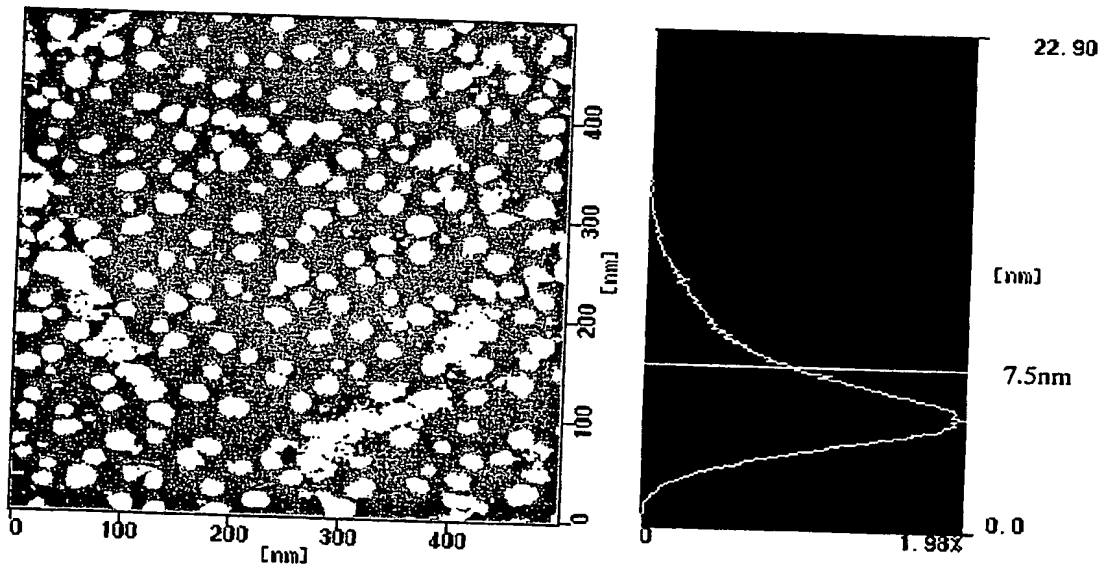
【図 8】



【図 9】



【図 10】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 基板に固定された鎖状の分子を明確に識別することが可能な、分子の検出方法、局在化の検出方法及び計数方法を提供するものである。

【解決手段】 基板上に固定された鎖状分子を溶液中で走査プローブ顕微鏡によりプロービングすることで視覚化し識別することを特徴とする分子の検出方法、前記方法により単位面積当たりのプロービングした鎖状分子の数を計数し、分子局在化の情報を得ることを特徴とする分子局在化の検出方法、及び前記方法により単位面積当たりのプロービングした鎖状分子の数を計数することを特徴とする分子の計数方法。

【選択図】 図 5

特願 2 0 0 3 - 1 1 4 8 3 6

ページ： 1/E

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 4 4 5 5]

1. 変更年月日
[変更理由]

1 9 9 3 年 7 月 2 7 日

住所変更

住 所
氏 名

東京都新宿区西新宿 2 丁目 1 番 1 号
日立化成工業株式会社